中国生态农业学报 2016 年 3 月 第 24 卷 第 3 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, Mar. 2016, 24(3): 345−355

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.151028

外源 EBR 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗微量元素吸收及叶绿素荧光动力学参数的影响*

寇江涛 康文娟 苗阳阳 师尚礼**

(甘肃农业大学草业学院/草业生态系统教育部重点实验室/甘肃省草业工程实验室/中–美草地畜牧业可持续研究中心 兰州 730070)

摘 要 为明确外源 2,4-表油菜素内酯(2,4-epibrassinolide, EBR)诱导紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)幼苗抗盐性的效果及其可能的生理调节机制，采用营养液水培法，以紫花苜蓿品种‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’为材料，研究 NaCl 胁迫下施用外源 EBR 对紫花苜蓿幼苗微量元素吸收及叶片 PSⅡ功能、电子传递速率和光能分配的影响。结果表明：150 mmol·L^{-1} NaCl 胁迫下，苜蓿幼苗不同器官(叶片、茎秆、根系)中的 Cu^{2+}含量显著升高，Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量和 Fe^{2+}/Na^{+}、Mn^{2+}/Na^{+}、Cu^{2+}/Na^{+}、Zn^{2+}/Na^{+}显著降低，无机离子的吸收、运输和分配等代谢平衡被打破；同时 NaCl 胁迫造成苜蓿幼苗叶片 PSⅡ反应中心受损，天线耗散、反应中心耗散增加，光合能力下降。NaCl 胁迫下，施用 0.1 μmol·L^{-1}外源 EBR 后，苜蓿幼苗不同器官(叶片、茎秆、根系)中的 Cu^{2+}含量显著降低，Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量及 Fe^{2+}/Na^{+}、Mn^{2+}/Na^{+}、Cu^{2+}/Na^{+}、Zn^{2+}/Na^{+}显著升高，幼苗体内无机离子的吸收、运输得到有效调控，Na^{+}和 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}、Zn^{2+}等阳离子间的拮抗作用减小；苜蓿幼苗叶片的 F_0、NPQ 显著降低，F_m、F_v/F_0、F_v/F_m、ΦPSⅡ、F_v'/F_m'、qP 和 ETR 显著升高，苜蓿幼苗叶片吸收的光能用于光化学反应部分(P)增加、天线色素耗散部分(D)和反应中心过剩光能部分(E)降低。说明外源 EBR 能够促进 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗对无机离子的选择性吸收、运输和分配，维持体内的离子代谢平衡，通过提高光合电子传递效率，降低天线热耗散和反应中心过剩光能，维持较高的 PSⅡ光化学活性，进而平衡激发能在 PSⅠ、PSⅡ之间的分配，降低 NaCl 胁迫对 PSⅡ反应中心的损伤程度，有效缓解 NaCl 胁迫对苜蓿幼苗所造成的伤害。

关键词 紫花苜蓿 NaCl 胁迫 2,4-表油菜素内酯 离子代谢 叶绿素荧光动力学 光系统Ⅱ(PSⅡ)
中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2016)03-0345-11

Effect of exogenous 2,4-epibrassinolide on trace element absorption and chlorophyll fluorescence of *Medicago sativa* L. seedlings under NaCl stress*

KOU Jiangtao, KANG Wenjuan, MIAO Yangyang, SHI Shangli**

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University / Key Ecosystems Laboratory, Ministry of Education / Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province / Sino-US Center for Grazingland Ecosystems Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract Due to the serious secondary soil salinization, salt injury has become a limiting factor of the development of high quality alfalfa industry in Northwest and North China. Brassinosteroid (BR) has been globally recognized as a new plant growth hormone with high and broad spectrum activity, which could regulate plant growth and development and mitigate a series of abiotic stresses due to high salinity, heavy metal contamination, high temperatures, low temperatures, drought and hypoxia. It also plays an important role in regulating the photosynthesis and absorption of trace element of plants. Given the

* 国家现代牧草产业技术体系建设专项(CARA-35)和全国种质资源保护项目(NB2130135)资助
** 通讯作者：师尚礼，主要研究方向为牧草栽培、草种质资源及育种。E-mail: shishl@gsau.edu.cn
寇江涛，主要研究方向为草种质资源及育种。E-mail: koujiangtao@st.gsau.edu.cn
收稿日期: 2015−09−21 接受日期: 2015−12−01

* The study was supported by the National Modern Forage Industry System Construction Project (No. CARA-35) and the National Germplasm Resources Conservation Project (No. NB2130135).
** Corresponding author, E-mail: shishl@gsau.edu.cn
Received Sep. 21, 2015; accepted Dec. 1, 2015

importance of the study of the effects of BR on trace element absorption and fluorescence kinetics parameters in *Medicago sativa* L. seedlings under salt stress, we investigated salt resistance and possible physiological regulation mechanism of *M. sativa* seedlings induced by exogenous 2,4-Epibrassinolide (EBR). The effects of EBR on the absorption, transportation and allocation of trace elements, leaf PSⅡ function, electron transport rate and light allocation in seedlings of *M. sativa* cv. Zhongmu No.3 and *M. sativa* cv. Longzhong under NaCl stress were determined using the hydroponics method. Four treatments were conducted in the experiment — CK (distilled water), 150 mmol·L^{-1} NaCl, 0.1 μmol·L^{-1} EBR and 150 mmol·L^{-1} NaCl + 0.1 μmol·L^{-1} EBR. The results showed that Cu^{2+} content increased significantly in different organs (leave, stem and root) of the seedlings, also Fe^{2+}, Mn^{2+} and Zn^{2+} contents significantly decreased and then Fe^{2+}/Na^{+}, Mn^{2+}/Na^{+}, Cu^{2+}/Na^{+} and Zn^{2+}/Na^{+} declined markedly under 150 mmol·L^{-1} NaCl stress. The metabolic process of the uptake, transportation and distribution of inorganic ions was disordered and PSⅡ reaction center damaged. Concurrently, there was a drop in the transportation ratio of photosynthetic electrons (ETR) and photochemical reaction energy. NaCl stress facilitated antenna dissipated energy and reaction center dissipated energy, which resulted in a drop in photosynthetic capacity. This condition was reversed by the addition of 0.1 μmol·L^{-1} EBR under NaCl stress. Addition of EBR significantly decreased Cu^{2+} content in different plant organs (leave, stem and root), while significantly increased contents of Fe^{2+}, Mn^{2+} and Zn^{2+}, and ratios of Fe^{2+}/Na^{+}, Mn^{2+}/Na^{+}, Cu^{2+}/Na^{+} and Zn^{2+}/Na^{+}. The uptake and transportation of inorganic ions were effectively regulated, accompanied by a decrease in antagonism among positive ions like Na^{+}, Fe^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, etc. Leaf F_0 and *NPQ* significantly decreased and F_m, F_v/F_0, F_v/F_m, ΦPSⅡ, F_v'/F_m', *qP* and ETR significantly increased. Absorbed light energy was allocated more to photochemical reaction energy, less light was allocated to antenna pigment dissipation and excess light energy to reaction center. This illustrated that EBR improved the selective absorption, transportation and distribution of inorganic ions and maintained ion metabolic balance under NaCl stress. Furthermore, EBR effectively alleviated any harm to *M. sativa* seedlings caused by NaCl stress by raising ETR, reducing antenna heat dissipation and excess light energy of reaction center and maintaining a higher level PSⅡ photochemistry activity. This further stimulated even energy allocation between PSⅠ and PSⅡ and decreased damage to PSⅡ reaction center.

Keywords *Medicago sativa*; NaCl stress; 2,4-Epibrassinolide; Ion metabolism; Chlorophyll fluorescence kinetics; Photosystem Ⅱ complex (PSⅡ)

土壤盐渍化是一个全球性的生态问题，是影响农作物产量和品质、限制农业发展的主要非生物胁迫因子之一[1]。盐渍化是干旱、半干旱地区土壤的一个普遍特征[2]，世界上 20%的灌溉用地都面临土壤次生盐渍化的危害[3–4]。盐胁迫会抑制根系对植物必需营养元素的吸收，造成植株营养亏缺[5]，并促进叶绿素 b 的分解，导致捕光色素蛋白复合体的结构与功能受到破坏，进而抑制光系统Ⅱ(PSⅡ)的功能，引起植物光合能力的下降[6]。

油菜素甾醇类化合物(brassinosteroids，BRs)是迄今为止国际上公认的活性最高、最广谱的一类植物生长激素，对植物的生长发育具有重要的调节作用[7]。BRs 与植物抗逆性的关系及其信号转导途径的研究一直都是热点，BRs 能缓解高盐[8]、重金属[9]、高温[10]、低温[11]、干旱[12]、低氧[13]等一系列非生物胁迫。在植物的盐适应机制上，光合能力和营养元素吸收等代谢过程相互交织[4,14]。已经研究证实，BRs 对植物体光合作用和营养元素的吸收具有重要的调控作用[15]。陆晓民和郭世荣[16]研究表明，2,4-表油菜素内酯(2,4-epibrassinolide，EBR)可调节黄瓜(*Cucumis sativus* L.)幼苗根系多胺变化，有效提高 ATPase 活性，促进无机离子的吸收，缓解低氧对黄瓜幼苗的伤害。李玉华等[17]研究表明，在冷胁迫条件下，EBR 能显著提高高山离子芥(*Chorispora bungeana* Fisch. et Mey.)幼苗叶片叶绿素含量、叶绿素荧光参数 F_v/F_m 和电子传递速率，增强抗氧化防御能力，减轻冷胁迫对高山离子芥幼苗的伤害。然而，有关 BRs 调控盐胁迫下植物光合作用和离子稳态方面的研究还较少[18]，其机理仍然不清晰。因此，研究盐胁迫下 BRs 对紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)幼苗微量元素吸收及荧光动力学参数的影响具有重要意义。

紫花苜蓿是我国种植面积最大的高产优质豆科牧草，但在我国西北、华北等苜蓿主产区，由于土壤次生盐渍化严重发生，盐害已成为发展高产、优质苜蓿草产业的主限制因子之一，因此如何提高紫花苜蓿耐盐性的研究已成为当前的研究热点。本试验以紫花苜蓿品种‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’为材料，研究 NaCl 胁迫下 EBR 对紫花苜蓿幼苗吸收 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}、Cu^{2+}等微量元素吸收、运输、分配及 PSⅡ功能、电子传递速率的调节效应，以明确 EBR 诱导苜蓿幼苗抗盐性的效果及其可能的生理机制，为苜蓿的抗盐栽培以及应用 BRs 缓解苜蓿盐害提供更多的理论和实践依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试紫花苜蓿品种为'中苜 3 号'(*M. sativa* cv. Zhongmu No. 3)、'陇中苜蓿'(*M. sativa* cv. Longzhong), 由甘肃农业大学草业生态系统教育部重点实验室提供。

2,4-表油菜素内酯(2,4-Epibrassinolide, EBR)购自美国 Sigma 公司, Ruibio 分装。使用前用 98%的乙醇溶解后稀释到适宜浓度, 乙醇最终含量为 0.1% (*v*/*v*), 用吐温–80 作为展开剂, 最终含量为 0.1% (*v*/*v*)。

1.2 试验设计

选取均匀、饱满、大小一致的供试苜蓿种子, 用 0.1% $HgCl_2$ 溶液消毒 5 min, 去离子水漂洗 6 次, 用吸水纸吸干, 播种于灭菌的蛭石培养钵中, 种子萌发出苗后, 每盆定植 10 株, 转移至光照培养室中, 光照 14 $h\cdot d^{-1}$, 光通量密度 400 $\mu mol\cdot m^{-2}\cdot s^{-1}$, 昼夜温度分别为(25±1) ℃和(20±1) ℃, 相对湿度 60%左右, 每 3 d 浇灌一次 1/2 Hoagland 营养液, 生长 35 d 后, 挑选长势基本一致的幼苗洗净转入装有 1/2 Hoagland 营养液的水培盆中预培养, 预培养 3 d 后开始试验。

前期研究表明, 0.1 $\mu mol\cdot L^{-1}$ EBR 能够促进 NaCl 胁迫下苜蓿种子萌发及幼苗生长, 对盐胁迫下苜蓿幼苗的缓解效果最好[19], 因此本试验选用 0.1 $\mu mol\cdot L^{-1}$ EBR 处理苜蓿幼苗。试验设 4 个处理: 1)CK(蒸馏水)、2)150 $mmol\cdot L^{-1}$ NaCl、3)0.1 $\mu mol\cdot L^{-1}$ EBR、4)150 $mmol\cdot L^{-1}$ NaCl + 0.1 $\mu mol\cdot L^{-1}$ EBR。每处理 4 次重复。各处理的溶液均用 1/2 Hoagland 营养液配置, 为保证处理液浓度稳定, 每隔 2 d 更换一次处理液, 营养液间歇通入空气。试验期间, 不同处理每隔 2 d 按照试验设计将 0.1 $\mu mol\cdot L^{-1}$ EBR 溶液(EBR 和 EBR+NaCl 处理)及蒸馏水(CK 和 NaCl 处理)均匀喷施于叶片正反面, 喷到有液滴为止, 同时向 EBR、EBR+NaCl 处理营养液中添加外源 EBR, 使其最终浓度为 0.1 $\mu mol\cdot L^{-1}$。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 叶绿素荧光动力学参数的测定

于试验开始后第 10 d 时, 利用 Imaging-PAM 调制叶绿素荧光仪(Walz, Germany)及其荧光图像分析软件(Imagingwin, Walz)测定各处理由上到下第 3、4 片完全展开的成熟叶片的叶绿素荧光动力学参数。

测定时间为上午 9:00—11:30, 测定时温度为(25±1) ℃, 每个处理 3 次重复。将苜蓿幼苗植株暗适应 20 min 后, 打开弱测量光 0.1 $\mu mol\cdot m^{-2}\cdot s^{-1}$, 测定初始荧光($F_0$), 随后打开一次饱和脉冲光 3 000 $\mu mol\cdot m^{-2}\cdot s^{-1}$(脉冲时间 0.8 s), 测定最大荧光($F_m$); 当荧光从最大值降低到接近 F_0 时, 用光化光(actinic light, 600 $\mu mol\cdot m^{-2}\cdot s^{-1}$)诱导荧光动力学, 测定 PSⅡ实际光合效率 ΦPSⅡ、非光化学淬灭系数(NPQ)、光化学淬灭系数(qP), 计算 PSⅡ潜在活性(F_v/F_0)、PSⅡ原初光能转化效率(F_v/F_m)和天线色素转化效率(F_v'/F_m'), 并计算叶片吸收光能分配情况: 用于天线耗散部分 $D=1-F_v'/F_m'$, 用于光化学反应部分 $P=qP\times F_v'/F_m'$, 反应中心耗散部分 $E=(1-qP)\times F_v'/F_m'$。之后设置不同脉冲光强, 测定表观光合电子传递速率(ETR)的动力学变化曲线。

1.3.2 微量元素含量的测定

测定叶绿素荧光动力学参数后, 将植株的根系、茎秆、叶片分开, 用去离子水冲洗干净, 并用吸水纸吸干水分, 置于烘箱内 105 ℃杀青 15 min, 然后 65 ℃烘干至恒重, 置于研钵中磨细并全部过圆孔直径为 0.25 mm 的筛, 保存用来测定微量元素的含量。

Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}、Cu^{2+}含量测定参照毛美飞等[20]方法用 1 $mol\cdot L^{-1}$ HCl 溶液浸提, 采用 TAS-990 Super 原子吸收分光光度计测定。

1.3.3 离子运输比和运输选择性比率的计算

离子运输比(transport ratio, TR)计算公式如下[21]:

$$TR(X)=a器官(X)/b器官(X) \quad (1)$$

式中: X 为 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}、Cu^{2+}含量。

离子运输选择性比率(transport selectivity ratio, TS)计算公式如下[22]:

$$TS(Y, Na^+)=a 器官(Y/Na^+)/b 器官(Y/Na^+) \quad (2)$$

式中: Y 代表 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}、Cu^{2+}的含量, Na^+为 Na^+含量。

1.4 数据处理与分析

采用Microsoft Excel 2003进行数据处理和图表绘制, 并采用SPSS 16.0软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)和最小显著差数法(LSD法)进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗离子含量的影响

NaCl 处理下苜蓿幼苗不同器官中(叶片、茎秆、根系)的 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量显著降低, 而 Cu^{2+}含量显著升高(图 1)。与 CK 相比, NaCl 处理下'中苜 3 号'和'陇中苜蓿'幼苗叶片中的 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量分别降低 37.86%和 44.14%、37.46%和 42.49%、44.15%和 51.30%, Cu^{2+}含量分别提高 88.25%和

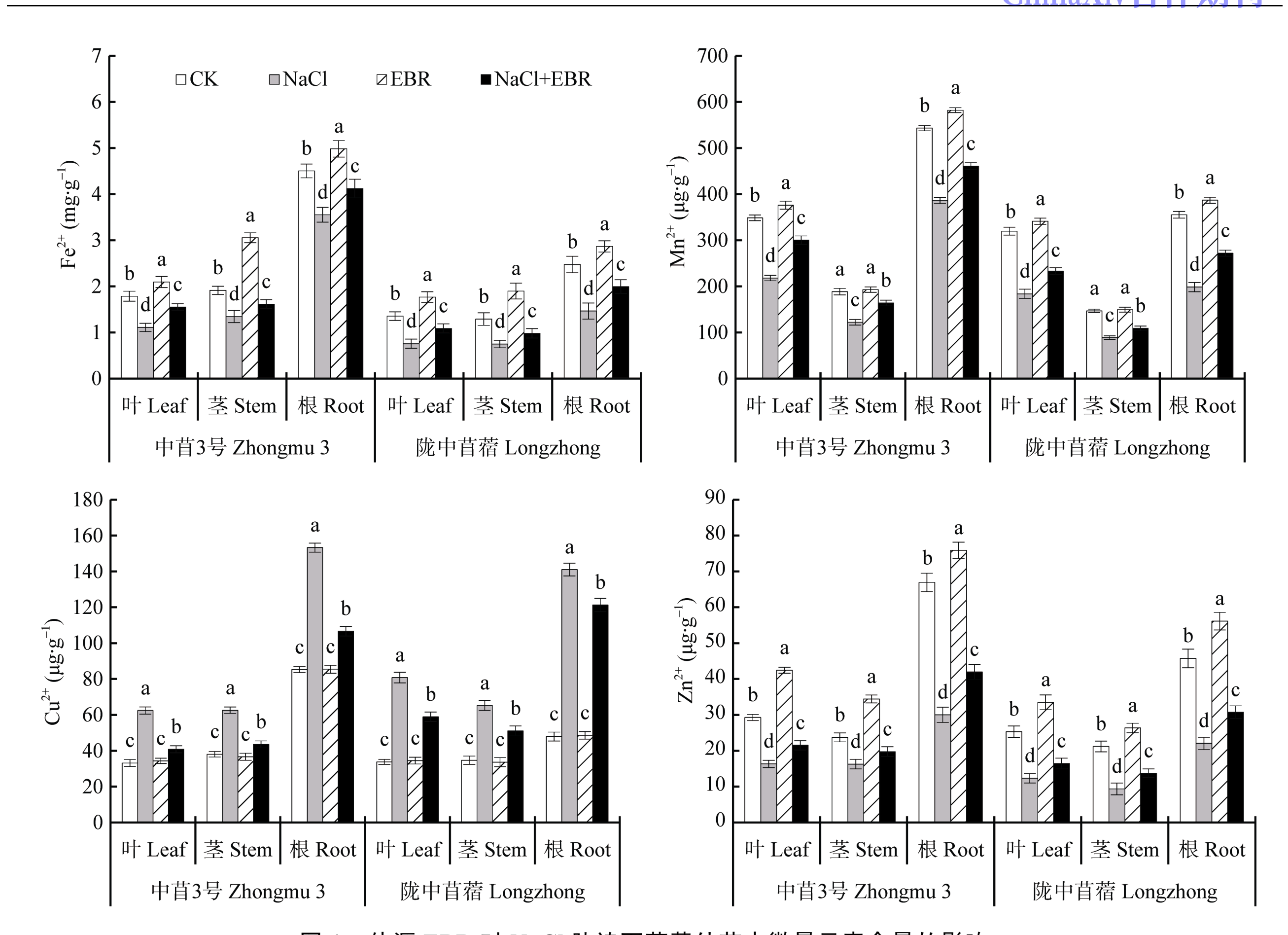


图 1 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗中微量元素含量的影响

Fig. 1 Effect of exogenous EBR on trace elements contents of *Medicago sativa* seedlings under salt stress

CK: 对照(蒸馏水); NaCl: 150 mmol·L^{-1} NaCl; EBR: 0.1 μmol·L^{-1} EBR; NaCl+EBR: 150 mmol·L^{-1} NaCl + 0.1 μmol·L^{-1} EBR。图中数据为平均值±标准差，不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。CK: control (distilled water); NaCl: 150 mmol·L^{-1} NaCl; EBR: 0.1 μmol·L^{-1} EBR; NaCl+EBR: 150 mmol·L^{-1} NaCl + 0.1 μmol·L^{-1} EBR. Values are means ± SD. Bars with different letters are statistically different at 0.05 level. The same below.

138.98%；茎秆中的 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量分别降低 29.61%和 41.99%、35.24%和 39.59%、31.39%和 55.84%，Cu^{2+}含量分别提高 64.47%和 87.70%；根系中的 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量分别降低 21.12%和 40.81%、28.90%和 44.15%、55.12%和 51.77%，Cu^{2+}含量分别提高 79.81%和 194.14%。

NaCl胁迫下施用外源EBR后，苜蓿幼苗不同器官中(叶片、茎秆、根系)的 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量显著升高，Cu^{2+}含量显著降低(图 1)。和单独 NaCl 处理相比，‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗叶片中的 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量分别提高 39.89%和 43.54%、37.80%和 26.66%、31.68%和 33.52%，Cu^{2+}含量分别降低 34.55%和 27.09%；茎秆中的 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量分别提高 19.81%和 30.85%、34.44%和 22.79%、21.24%和 46.29%，Cu^{2+}含量分别降低 30.36%和 21.64%；根系中的 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量分别提高 16.04%和 36.07%、19.34%和 36.98%、39.77%和 39.28%，Cu^{2+}含量分别降低 30.39%和 13.99%。

2.2 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗中 Fe^{2+}/Na^{+}、Mn^{2+}/Na^{+}、Cu^{2+}/Na^{+}、Zn^{2+}/Na^{+}的影响

由表 1 可知，NaCl 胁迫下，苜蓿幼苗不同器官中(叶片、茎秆、根系)的 Fe^{2+}/Na^{+}、Mn^{2+}/Na^{+}、Cu^{2+}/Na^{+}、Zn^{2+}/Na^{+}显著降低。NaCl处理下‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗叶片中 Fe^{2+}/Na^{+}、Mn^{2+}/Na^{+}、Cu^{2+}/Na^{+}、Zn^{2+}/Na^{+}分别为 CK 的 0.33 倍和 0.26 倍、0.33 倍和 0.26 倍、0.82 倍和 0.83 倍、0.30 倍和 0.22 倍；茎秆中的 Fe^{2+}/Na^{+}、Mn^{2+}/Na^{+}、Cu^{2+}/Na^{+}、Zn^{2+}/Na^{+}分别为 CK 的 0.26 倍和 0.26 倍、0.23 倍和 0.27 倍、0.60 倍和 0.69 倍、0.25 倍和 0.20 倍；根系中的 Fe^{2+}/Na^{+}、Mn^{2+}/Na^{+}、Cu^{2+}/Na^{+}、Zn^{2+}/Na^{+}分别为 CK 的 0.15 倍和 0.15 倍、0.13 倍和 0.14 倍、0.34 倍和 0.53 倍、0.08 倍和 0.12 倍。

NaCl胁迫下施用外源EBR后，苜蓿幼苗不同器官中(叶片、茎秆、根系)的 Fe^{2+}/Na^{+}、Mn^{2+}/Na^{+}、Cu^{2+}/Na^{+}、Zn^{2+}/Na^{+}显著升高(表 1)。施用外源 EBR 后，‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗叶片中的 Fe^{2+}/Na^{+}、

表 1　外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗中 Fe^{2+}/Na^+、Mn^{2+}/Na^+、Cu^{2+}/Na^+和 Zn^{2+}/Na^+的影响

Table 1　Effect of exogenous EBR on ratios of Fe^{2+}/Na^+, Mn^{2+}/Na^+, Cu^{2+}/Na^+ and Zn^{2+}/Na^+ in *Medicago sativa* seedlings under salt stress

品种 Variety	器官 Organ	处理 Treatment	Fe^{2+}/Na^+	Mn^{2+}/Na^+	Cu^{2+}/Na^+	Zn^{2+}/Na^+
中苜 3 号 Zhongmu 3	叶 Leaf	CK	25.64±2.30b	4.99±0.09b	0.57±0.02a	0.42±0.02b
		NaCl	8.42±0.78d	1.65±0.07d	0.47±0.01b	0.12±0.01d
		EBR	33.51±2.45a	6.01±0.15a	0.55±0.02a	0.68±0.03a
		NaCl+EBR	16.40±1.16c	3.17±0.16c	0.53±0.03a	0.23±0.02c
	茎 Stem	CK	32.17±2.13b	3.17±0.28a	0.64±0.03a	0.40±0.03b
		NaCl	8.21±0.66d	0.75±0.05c	0.38±0.02c	0.10±0.01d
		EBR	51.28±4.32a	3.24±0.25a	0.61±0.01a	0.58±0.05a
		NaCl+EBR	13.48±0.65c	1.37±0.03b	0.46±0.02b	0.16±0.01c
	根 Root	CK	378.47±25.00b	45.57±2.88b	7.15±0.82a	5.63±0.21b
		NaCl	56.26±6.92d	6.12±0.25d	2.43±0.11c	0.48±0.05d
		EBR	445.83±26.75a	52.00±2.96a	7.63±1.17a	6.78±0.29a
		NaCl+EBR	183.34±20.03c	20.47±1.77c	4.73±0.30b	1.86±0.14c
陇中苜蓿 Longzhong	叶 Leaf	CK	21.26±1.66b	5.01±0.04b	0.58±0.03a	0.40±0.02b
		NaCl	5.43±0.70d	1.32±0.08d	0.48±0.03b	0.09±0.01d
		EBR	28.13±1.09a	5.44±0.19a	0.55±0.02a	0.53±0.03a
		NaCl+EBR	10.03±0.84c	2.15±0.05c	0.54±0.02a	0.15±0.01c
	茎 Stem	CK	16.54±1.98b	1.88±0.07a	0.54±0.04a	0.27±0.02b
		NaCl	4.30±0.41d	0.51±0.02c	0.37±0.02c	0.05±0.01d
		EBR	24.25±2.55a	1.91±0.04a	0.53±0.04a	0.34±0.02a
		NaCl+EBR	6.64±0.59c	0.74±0.05b	0.45±0.02b	0.09±0.01c
	根 Root	CK	140.22±19.26a	20.09±1.73a	3.71±0.28a	2.58±0.14b
		NaCl	20.57±2.29c	2.79±0.13c	1.98±0.08c	0.31±0.02d
		EBR	157.13±13.56a	21.18±1.19a	3.66±0.20a	3.07±0.16a
		NaCl+EBR	54.94±5.75b	7.48±0.13b	2.84±0.19b	0.85±0.07c

Mn^{2+}/Na^+、Cu^{2+}/Na^+、Zn^{2+}/Na^+分别为单独 NaCl 处理的 1.95 倍和 1.85 倍、1.92 倍和 1.63 倍、1.12 倍和 1.13 倍、1.84 倍和 1.72 倍; 茎秆中的 Fe^{2+}/Na^+、Mn^{2+}/Na^+、Cu^{2+}/Na^+、Zn^{2+}/Na^+分别为单独 NaCl 处理的 1.64 倍和 1.55 倍、1.84 倍和 1.45 倍、1.22 倍和 1.19 倍、1.66 倍和 1.73 倍; 根系中的 Fe^{2+}/Na^+、Mn^{2+}/Na^+、Cu^{2+}/Na^+、Zn^{2+}/Na^+分别为单独 NaCl 处理的 3.26 倍和 2.67 倍、3.34 倍和 2.68 倍、1.95 倍和 1.43 倍、3.90 倍和 2.73 倍。

2.3　外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗体内离子运输比的影响

由表 2 可知, NaCl 胁迫下, ‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗体内 Fe^{2+}、Mn^{2+}由根部向茎秆、茎秆向叶片的运输比均与 CK 无显著差异; ‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗体内 Cu^{2+}由根部向茎秆的运输比显著降低, 分别为 CK 的 0.71 倍和 0.64 倍, 由茎秆向叶片的运输比显著提高, 分别为 CK 的 1.15 倍和 1.27 倍; ‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗体内 Zn^{2+}由根部向茎秆的运输比显著提高, 分别为 CK 的 1.19 倍和 1.34 倍, 由茎秆向叶片的运输比与 CK 无显著差异。

NaCl 胁迫下施用外源 EBR 后, ‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗体内 Fe^{2+}、Mn^{2+}由根部向茎秆、茎秆向叶片的运输比均与单独 NaCl 处理无显著差异; ‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗体内 Cu^{2+}由根部向茎秆的运输比显著升高, 分别为单独 NaCl 处理的 1.19 倍和 1.34 倍, 由茎秆向叶片的运输比显著降低, 分别为单独 NaCl 处理的 0.84 倍和 0.85 倍; ‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗体内 Zn^{2+}由根部向茎秆的运输比显著降低, 分别为单独 NaCl 处理的 0.87 倍和 0.72 倍, 由茎秆向叶片的运输比与单独 NaCl 处理无显著差异。

2.4　外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗体内离子运输选择性比率的影响

由表 3 可知, NaCl 胁迫下, ‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗体内 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}、Zn^{2+}由根部向茎秆的运输选择性比率均显著提高, 分别为 CK 的 1.68 倍和 1.77 倍、1.72 倍和 1.95 倍、1.73 倍和 1.15 倍、2.87 倍和 1.64 倍, 由茎秆向叶片的运输选择性比率也显著提高, 分别为 CK 的 1.29 倍和 1.37 倍、1.41

表 2 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗体内离子运输比的影响

Table 2 Effect of exogenous EBR on transportation ratios (TR) of ions in seedlings of *Medicago sativa* under salt stress

品种 Variety	运输途径 Transport pathway	处理 Treatment	Fe^{2+}	Mn^{2+}	Cu^{2+}	Zn^{2+}
中苜 3 号 Zhongmu 3	根–茎 Root-stem	CK	0.43±0.03a	0.35±0.01a	0.45±0.02a	0.46±0.03b
		NaCl	0.38±0.05a	0.32±0.02a	0.32±0.02c	0.54±0.01a
		EBR	0.41±0.02a	0.33±0.01a	0.43±0.01a	0.45±0.03b
		NaCl+EBR	0.39±0.04a	0.36±0.01a	0.38±0.03b	0.47±0.04b
	茎–叶 Stem-leaf	CK	0.94±0.10a	1.85±0.09a	0.87±0.03b	1.24±0.06a
		NaCl	0.93±0.13a	1.79±0.12a	1.00±0.05a	1.21±0.12a
		EBR	0.89±0.06a	1.95±0.11a	0.84±0.01b	1.23±0.09a
		NaCl+EBR	0.96±0.05a	1.83±0.11a	0.84±0.02b	1.20±0.11a
陇中苜蓿 Longzhong	根–茎 Root-stem	CK	0.52±0.02a	0.41±0.02a	0.73±0.05a	0.46±0.05b
		NaCl	0.51±0.05a	0.45±0.04a	0.46±0.03c	0.62±0.04a
		EBR	0.53±0.03a	0.39±0.03a	0.69±0.05a	0.47±0.02b
		NaCl+EBR	0.49±0.02a	0.40±0.03a	0.62±0.04b	0.45±0.05b
	茎–叶 Stem-leaf	CK	1.06±0.08a	2.18±0.07a	0.98±0.06b	1.20±0.08a
		NaCl	1.03±0.14a	2.07±0.12a	1.24±0.04a	1.33±0.10a
		EBR	1.13±0.12a	2.22±0.09a	1.03±0.07b	1.27±0.08a
		NaCl+EBR	1.12±0.12a	2.14±0.03a	1.06±0.05b	1.21±0.14a

表 3 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗体内阳离子运输选择性比率的影响

Table 3 Effect of exogenous EBR on transport selectivity ratios (TSs) of ions in *Medicago sativa* seedlings under salt stress

品种 Variety	运输途径 Transport pathway	处理 Treatment	Fe^{2+}/Na^+	Mn^{2+}/Na^+	Cu^{2+}/Na^+	Zn^{2+}/Na^+
中苜 3 号 Zhongmu 3	根–茎 Root-stem	CK	0.09±0.02b	0.07±0.02b	0.09±0.02b	0.07±0.02b
		NaCl	0.15±0.01a	0.12±0.01a	0.16±0.01a	0.21±0.01a
		EBR	0.08±0.01b	0.06±0.01b	0.08±0.01b	0.09±0.02b
		NaCl+EBR	0.10±0.01b	0.07±0.01b	0.08±0.01b	0.09±0.00b
	茎–叶 Stem-leaf	CK	0.80±0.05c	1.58±0.13c	0.74±0.05c	1.06±0.05b
		NaCl	1.03±0.04a	2.22±0.20a	1.24±0.09a	1.25±0.03a
		EBR	0.78±0.06c	1.56±0.14c	0.79±0.04c	1.08±0.04b
		NaCl+EBR	0.92±0.05b	1.91±0.13b	0.98±0.04b	1.09±0.03b
陇中苜蓿 Longzhong	根–茎 Root-stem	CK	0.12±0.02b	0.09±0.01b	0.16±0.01b	0.11±0.01b
		NaCl	0.21±0.01a	0.18±0.02a	0.19±0.02a	0.17±0.02a
		EBR	0.13±0.01b	0.09±0.01b	0.16±0.01b	0.11±0.01b
		NaCl+EBR	0.12±0.02b	0.10±0.01b	0.15±0.01b	0.11±0.02b
	茎–叶 Stem-leaf	CK	1.01±0.05c	1.67±0.11c	1.10±0.10c	1.47±0.06b
		NaCl	1.38±0.08a	2.59±0.16a	1.55±0.07a	1.66±0.14a
		EBR	0.97±0.08c	1.75±0.14c	1.08±0.10c	1.49±0.13b
		NaCl+EBR	1.13±0.06b	2.11±0.12b	1.28±0.04b	1.45±0.14b

倍和 1.55 倍、1.67 和 1.41 倍、1.19 和 1.13 倍。

NaCl 胁迫下施用外源 EBR 后，‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗体内 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}、Zn^{2+}由根部向茎秆的运输选择性比率显著降低，分别为 CK 的 0.58 倍和 0.58 倍、0.55 倍和 0.54 倍、0.49 倍和 0.81 倍、0.42 倍和 0.64 倍，由茎秆向叶片的运输选择性比率也显著降低，分别为 CK 的 0.89 倍和 0.81 倍、0.86 倍和 0.81 倍、0.79 倍和 0.82 倍、0.87 倍和 0.87 倍。

2.5 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗叶片叶绿素荧光动力学参数的影响

NaCl 胁迫下，苜蓿幼苗叶片的 F_0、NPQ 显著提高，F_m、F_v/F_0、F_v/F_m、ΦPSⅡ、F_v'/F_m'、qP 显著降低(表 4)。与 CK 相比，NaCl 处理下‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗叶片的 F_0、NPQ 分别提高 22.46%和 26.25%、38.79%和 41.83%，F_m、F_v/F_0、F_v/F_m、ΦPSⅡ、F_v'/F_m'、qP 分别下降 26.26%和 32.71%、47.89%和 56.82%、13.49% 和 19.01%、37.86% 和 45.88%、

表 4　外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗叶片叶绿素荧光动力学参数的影响

Table 4　Effect of exogenous EBR on chlorophyll fluorescence parameters of *Medicago sativa* seedlings under salt stress

品种 Variety	处理 Treatment	F_0	F_m	F_v/F_0	F_v/F_m	ΦPSⅡ	F_v'/F_m'	qP	NPQ
中苜 3 号 Zhongmu 3	CK	0.097±0.002c	0.569±0.010a	4.898±0.031a	0.830±0.009a	0.409±0.009b	0.785±0.012a	0.753±0.012a	0.414±0.010c
	NaCl	0.118±0.002a	0.421±0.006c	2.552±0.076c	0.718±0.006c	0.254±0.008d	0.514±0.013c	0.445±0.012c	0.574±0.009a
	EBR	0.093±0.002c	0.566±0.016a	5.078±0.083a	0.835±0.008a	0.467±0.010a	0.795±0.013a	0.752±0.010a	0.415±0.010c
	NaCl+EBR	0.105±0.002b	0.453±0.005b	3.327±0.087b	0.769±0.005b	0.339±0.009c	0.667±0.011b	0.637±0.009b	0.473±0.010b
陇中苜蓿 Longzhong	CK	0.104±0.002c	0.581±0.009a	4.612±0.125a	0.822±0.010a	0.377±0.010b	0.744±0.008a	0.775±0.011a	0.449±0.006c
	NaCl	0.131±0.002a	0.391±0.006c	1.992±0.084c	0.666±0.009c	0.204±0.007d	0.465±0.010c	0.417±0.011c	0.637±0.007a
	EBR	0.102±0.003c	0.570±0.009a	4.587±0.085a	0.821±0.009a	0.403±0.009a	0.752±0.011a	0.779±0.013a	0.447±0.010c
	NaCl+EBR	0.118±0.002b	0.409±0.006b	2.472±0.035b	0.712±0.010b	0.265±0.014c	0.559±0.007b	0.573±0.011b	0.545±0.007b

34.53%和 37.59%、40.87%和 46.18%。

NaCl 胁迫下施用外源 EBR 后，苜蓿幼苗叶片的 F_0、NPQ 显著降低，F_m、F_v/F_0、F_v/F_m、ΦPSⅡ、F_v'/F_m'、qP 显著升高(表 4)。和单独 NaCl 处理相比，‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗叶片的 F_0、NPQ 分别下降 11.42%和 9.85%、17.58%和 14.45%，F_m、F_v/F_0、F_v/F_m、ΦPSⅡ、F_v'/F_m'、qP 分别提高 7.89%和 4.65%、30.35%和 24.13%、7.02%和 6.97%、33.25%和 29.74%、29.70%和 20.39%、43.16%和 37.31%。

由图 2 可知，NaCl 胁迫显著降低了苜蓿幼苗叶片 PSⅡ的 ETR，与 CK 相比，NaCl 处理下‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗叶片 PSⅡ的 ETR 分别下降 14.63%~64.29%和 14.29%~59.02%。施用外源 EBR 后，苜蓿幼苗叶片 PSⅡ的 ETR 显著升高，和单独 NaCl 处理相比，‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗叶片 PSⅡ的 ETR 分别提高 8.57%~119.68%和 32.17%~133.14%。

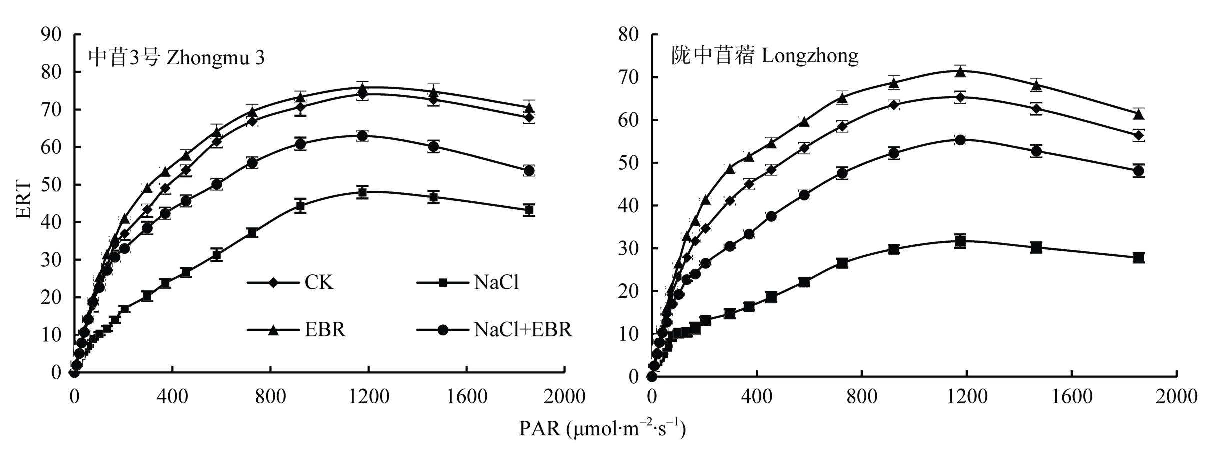


图 2　外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗叶片 PSⅡ的 ETR 的影响

Fig. 2　Effects of exogenous EBR on ETR of PSⅡ of *Medicago sativa* seedlings under salt stress

2.6　外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗叶片吸收光能分配情况的影响

由表 5 可知，NaCl 胁迫导致苜蓿幼苗叶片吸收的光能向光化学反应部分(P)分配显著减少，增加了向天线耗散部分(D)和反应中心耗散部分(E)的分配。与 CK 相比，NaCl 处理下‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗叶片的 P 分别下降 61.29%和 66.40%，而 D、E 分别提高 126.19%和 109.34%、46.92%和 61.80%。施用外源 EBR 能够明显促进苜蓿幼苗叶片吸收的光能向 P 的分配，降低向 D、E 的分配。和单独 NaCl 处理相比，‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗叶片的 P 分别提高 85.73%和 65.26%($P<0.05$)，而 D、E 分别下降 31.42%和 17.68%、15.22%和 11.76%。

3　讨论

3.1　外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿微量元素吸收的影响

NaCl 胁迫下，高浓度盐离子(Na^+、Cl^-)的单盐毒害效应和渗透胁迫效应能够抑制植物对其他营养元素的吸收，植物的营养平衡被打破，致使植物营养匮乏、氧化胁迫伤害加剧，从而影响植物正常生长代谢[23]。本研究中，NaCl 处理下苜蓿幼苗不同器官(叶片、茎秆、根系)中高浓度的 Na^+与 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}等营养元素之间相互竞争，抑制苜蓿幼苗对 Fe^{2+}、

表 5 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗叶片吸收光能分配情况的影响
Table 5 Effect of exogenous EBR on absorbed light allocation of *Medicago sativa* seedlings under salt stress

品种 Variety	处理 Treatment	PSⅡ光化学反应(*P*) PSⅡ photochemistry (%)	天线耗散(*D*) Antenna heat dissipation (%)	反应中心耗散(*E*) Excess energy (%)
中苜 3 号 Zhongmu 3	CK	59.10±1.17a	21.48±1.21c	19.42±1.07c
	NaCl	22.88±0.71c	48.59±1.29a	28.53±1.08a
	EBR	59.81±1.46a	20.49±1.27c	19.70±0.75c
	NaCl+EBR	42.49±1.17b	33.33±1.08b	24.19±0.42b
陇中苜蓿 Longzhong	CK	57.69±0.28a	25.58±0.84c	16.72±1.02c
	NaCl	19.39±0.87c	53.55±0.98a	27.06±0.29a
	EBR	58.59±1.82a	24.82±1.07c	16.59±0.74c
	NaCl+EBR	32.04±0.78b	44.08±0.69b	23.88±0.62b

Mn^{2+}、Zn^{2+}的吸收，Na^+还会影响生物膜对 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}等阳离子的选择性吸收，进而影响根系对微量营养元素的吸收，导致苜蓿幼苗不同器官(叶片、茎秆、根系)中 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量显著降低，但 Cu^{2+}含量显著升高，同时也显著降低了 Fe^{2+}/Na^+、Mn^{2+}/Na^+、Cu^{2+}/Na^+、Zn^{2+}/Na^+值，表明盐胁迫导致苜蓿植株对微量元素的吸收利用受限，体内的离子代谢平衡被打破。适应植物体正常生长发育的 Cu^{2+}范围很窄，过量的 Cu^{2+}会干扰细胞代谢和离子平衡对植物产生毒害作用[24]，Cu^{2+}含量升高还会抑制根系生长，使根系的养分吸收能力下降，并影响具有相同电荷数的 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}等微量元素的吸收，造成 Fe^{2+}缺乏引起细胞代谢紊乱，叶绿素合成受到抑制[25]，同时 Mn^{2+}、Zn^{2+}含量的降低会影响苜蓿幼苗的光合代谢、呼吸代谢等过程，并使得叶绿体中某些叶绿素–蛋白复合体合成受到抑制，导致苜蓿幼苗光合能力降低。NaCl 胁迫下施用外源 EBR 提高了苜蓿幼苗不同器官(叶片、茎秆、根系)中 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}含量及 Fe^{2+}/Na^+、Mn^{2+}/Na^+、Cu^{2+}/Na^+、Zn^{2+}/Na^+值，这与尹博等[24]在番茄上的研究结果相似，表明外源 EBR 能够调控 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗的离子代谢过程，显著逆转 NaCl 胁迫下苜蓿根系对 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}吸收的抑制，促进了苜蓿幼苗对微量营养元素的吸收、运输及分配，维持体内的离子平衡，有效缓解盐分离子(Na^+、Cl^-)对光合机构的破坏，从而保证叶绿体进行正常的光合作用，提高苜蓿幼苗的耐盐性。

NaCl 胁迫下，植物细胞通过大量吸收无机离子来维持渗透势，但高浓度 Na^+会不可避免地对细胞的代谢系统造成伤害，并影响植物对其他营养元素的吸收、运输和分配[26]。本研究中，NaCl 胁迫下苜蓿幼苗体内高浓度的 Na^+使得 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}、Zn^{2+}等无机离子由“源”向“库”的运输比发生改变，同时 Na^+和 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}、Zn^{2+}等阳离子间存在拮抗作用，导致 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}、Zn^{2+}等阳离子的运输选择性比率显著升高，从而引起苜蓿幼苗体内的离子毒害效应；此外，苜蓿幼苗不同器官和组织对离子选择性吸收和运输的能耗增加，导致离子代谢紊乱[27]。研究表明，外源 EBR 能够提高 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗根系的抗氧化能力和活力水平[28]，促进逆境胁迫下植物对 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}等营养离子的吸收，增强植物对逆境胁迫的耐受性[24]。NaCl 胁迫下施用外源 EBR 降低了苜蓿幼苗对 Na^+的吸收，使得 Na^+和 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}、Zn^{2+}等阳离子间的拮抗作用减小，促进了苜蓿幼苗对 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Zn^{2+}的选择性吸收和运输，有效维持苜蓿幼苗体内的离子代谢平衡，从而降低 NaCl 胁迫苜蓿植株的离子毒害效应，提高苜蓿幼苗对 NaCl 胁迫的耐受性。

3.2 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗叶绿素荧光动力学参数的影响

叶绿素荧光动力学技术能迅速、准确地反映盐胁迫等逆境对植物光合系统造成的损伤，是一种研究植物光合作用快速的、无损伤的探针[29]，该技术已成为研究植物在逆境胁迫条件下光合作用及热耗散情况的一种有效工具[30]。植物光合机构叶绿体及其类囊体膜上的 PSⅡ对盐胁迫非常敏感，通过分析叶绿素荧光参数的变化有助于了解盐胁迫损伤植物光合机构的不同位点和程度[31]，并可以反映植物叶片 PSⅡ对光能的吸收和利用情况[32]。

F_0的高低和叶片叶绿素浓度有关[33]，F_m的大小与 PSⅡ原初电子受体 Q_A 的氧化还原状态有关，可反映通过 PSⅡ的电子传递情况[34]。本研究中，NaCl 胁迫下苜蓿幼苗叶片的 F_0 显著升高、F_m 显著降低，F_0 的增加可能是植物叶片 PSⅡ反应中心遭到破坏，或者叶片类囊体膜受到损伤[35]，说明 NaCl 胁迫造成苜蓿叶片 PSⅡ原初电子受体 Q_A 还原态的重新氧

化受到抑制, PSⅡ的电子传递速率降低。NaCl 胁迫下施用外源 EBR 后, 苜蓿幼苗叶片的 F_0 显著降低、F_m 显著升高, 说明外源 EBR 能够有效缓解 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗叶片 PSⅡ反应中心和类囊体膜所受到的破坏, 并能促进 PSⅡ原初电子受体 Q_A 还原态的重新氧化, 提高 PSⅡ的电子传递速率。

ΦPSⅡ是 PSⅡ反应中心进行光化学反应的实际效率, 其大小与碳同化反应强度密切相关[29]。F_v/F_0、F_v/F_m 是表明光化学反应状况的重要参数[36], 正常条件下, F_v/F_m 一般为 0.80~0.85, 逆境胁迫下 F_v/F_m 会明显下降[35]。本研究中, NaCl 胁迫下苜蓿幼苗叶片的 ΦPSⅡ、F_v/F_0、F_v/F_m 均显著降低, ΦPSⅡ的降低说明 NaCl 胁迫降低了苜蓿叶片 PSⅡ反应中心光能向化学能的转变效率, 导致实际荧光产量下降, PSⅡ反应中心的实际光化学效率下降, 从而降低了苜蓿叶片的碳同化效率。F_v/F_0、F_v/F_m 的降低说明 NaCl 胁迫导致苜蓿叶片 PSⅡ潜在活性及 PSⅡ原初光能转化效率下降, 进一步证实了 NaCl 胁迫使得苜蓿叶片 PSⅡ反应中心受到了损伤, 同时光合作用原初反应过程中产生了光抑制现象, 光合电子由 PSⅡ反应中心向 Q_A、Q_B 及 PQ 库的传递过程受到抑制, 激发能从天线色素蛋白复合体(LHC)向 PSⅡ的传递受到抑制, 致使激发能在 PSⅠ、PSⅡ之间的分配平衡被打破, 导致苜蓿幼苗光合磷酸化及碳同化效率下降。NaCl 胁迫下施用外源 EBR 后, 苜蓿幼苗叶片 ΦPSⅡ、F_v/F_0、F_v/F_m 均显著升高, 说明 NaCl 胁迫对苜蓿幼苗造成的光抑制程度能够被外源 EBR 所缓解。

qP 反映了 PSⅡ原初电子受体 Q_A 的还原状态, 它由 Q_A 重新氧化形成[36]。NPQ 是 PSⅡ天线色素吸收的光能不能用于光合电子传递而以热的形式耗散掉的部分[37]。本研究中, NaCl 胁迫下苜蓿幼苗叶片 qP 显著降低、NPQ 显著提高, 说明 NaCl 胁迫下, 苜蓿叶片 PSⅡ反应中心的开放比例降低, 参与 CO_2 固定的电子量减少, 这必然使得原初电子受体 Q_A 的还原效率降低, 同时过剩的光能以热的形式耗散掉, 光能转变为化学能的效率降低, 光合效率下降。NaCl 胁迫也显著降低了苜蓿叶片的 F_v'/F_m'和 ETR, 进一步说明 NaCl 胁迫下天线色素捕获的光能向 PSⅡ反应中心传递的效率下降。由于 NaCl 胁迫降低了苜蓿幼苗叶片 PSⅡ反应中心的电子传递效率, 能够为碳同化提供的 ATP、NADPH 量减少, 电子传递量子产量下降, 进一步限制苜蓿叶片的光合作用, 这与 F_v/F_0、F_v/F_m 的变化结果一致, 也是 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗光合作用下降的根本原因之一。NaCl 胁迫下施用外源 EBR 后, 苜蓿幼苗叶片 NPQ 显著降低、qP、F_v'/F_m'和 ETR 显著升高, 表明外源 EBR 能够降低 Q_A 重新氧化受到的抑制程度, 提高 PSⅡ反应中心的开放比例和光化学效率, 降低 PSⅡ反应中心的电荷分离和电子传递活性受阻程度, 并增加进行光合作用的电子量, 降低天线热耗散和其他形式耗散的光能, 进而减轻 NaCl 胁迫对苜蓿幼苗光合机构的伤害, 提高 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗的光合效率。

在正常情况下, 植物叶片光合色素吸收的光能主要有 3 种消耗途径: 光合电子传递、叶绿素荧光发射及热耗散, 当植物生长遭受逆境胁迫时, 这 3 种途径之间存在着此消彼长的关系[38]。研究表明, NaCl 胁迫下茄子(*Solanum melongena* L.)幼苗光化学反应的能量(P)减少, 天线色素耗散的能量(D)增加, 非光化学反应耗散的能量(E)变化不稳定[39], 说明在逆境胁迫下植物会通过光能的分配以缓解过剩光能对植物的伤害。本研究中, NaCl 胁迫导致苜蓿幼苗叶片吸收的光能向光化学反应部分(P)分配减少, 增加了天线耗散能(D)和反应中心耗散能(E), 这与胡文海等[40]的研究结果一致, 说明苜蓿幼苗叶片吸收光能通过向天线色素的能耗增加以减轻 NaCl 胁迫对 PSⅡ反应中心的伤害, 但反应中心耗散部分(E)的增加说明 NaCl 胁迫引起了反应中心过剩光能的积累, 对光合机构造成了伤害。施用外源 EBR 能够明显促进苜蓿幼苗叶片吸收的光能向 P 的分配, 降低向 D、E 的分配, 表明外源 EBR 能够降低天线热耗散和反应中心过剩光能, 同时平衡激发能在 PSⅠ、PSⅡ之间的分配, 进而缓解 NaCl 胁迫对苜蓿幼苗叶片 PSⅡ的伤害, 在缓解 NaCl 胁迫中发挥重要作用。

4　结论

NaCl 胁迫下, 苜蓿幼苗无机离子的吸收、运输和分配等代谢过程失调, 苜蓿幼苗叶片 PSⅡ反应中心受损, 天线耗散、反应中心耗散增加, 光合能力下降。外源 EBR 能够促进苜蓿幼苗在 NaCl 胁迫下对无机离子的选择性吸收和运输, 维持体内的离子代谢平衡, 并有效缓解 NaCl 胁迫对 PSⅡ反应中心的损伤, 同时降低天线热耗散, 维持较高的 PSⅡ光化学活性, 有效缓解盐胁迫对苜蓿幼苗生长的抑制作用。

参考文献　References

[1] 蔡晓锋, 胡体旭, 叶杰, 等. 植物盐胁迫抗性的分子机制研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2015, 34(3): 134–141

Cai X F, Hu T X, Ye J, et al. Molecular mechanisms of salinity tolerance in plants[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2015, 34(3): 134–141

[2] 权全, 解建仓, 沈冰, 等. 基于实测数据及遥感图片的土壤采样方法[J]. 农业工程学报, 2010, 26(12): 237–241
Quan Q, Xie J C, Shen B, et al. Soil sampling method based on field measurements and remote sensing images[J]. Transactions of the CSAE, 2010, 26(12): 237–241

[3] Yamaguchi T, Blumwald E. Developing salt-tolerant crop plants: Challenges and opportunities[J]. Trends in Plant Science, 2005, 10(12): 615–620

[4] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 651–681

[5] Zhu J K. Plant salt tolerance[J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(2): 66–71

[6] Everard J D, Gucci R, Kann S C, et al. Gas exchange and carbon partitioning in the leaves of celery (*Apium graveolens* L.) at various leaves of root zone salinity[J]. Plant Physiology, 1994, 106(1): 281–292

[7] Choudhary S P, Oral H V, Bhardwaj R, et al. Interaction of brassinosteroids and polyamines enhances copper stress tolerance in *Raphanus sativus*[J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(15): 5659–5675

[8] Liu J L, Gao H L, Hong L Z, et al. Role of plant pigments in the 24-epibrassinolide ameliorating salt stress in canola[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2013, 33(1): 90–100

[9] Sharma I, Pati P K, Bhardwaj R. Effects of 24-epibrassinolide on oxidative stress markers induced by nickel-ion *Raphaus sativus* L.[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 33(5): 1723–1735

[10] Mazorra L M, Holton N, Bishop G J, et al. Heat shock response in tomato brassinosteroid mutants indicates that thermotolerance is independent of brassinosteroid homeostasis[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2011, 49(12): 1420–1428

[11] Liu Y J, Jiang H F, Zhao Z G, et al. Abscisic acid is involved in brassinosteroids-induced chilling tolerance in the suspension cultured cells from *Chorispora bungeana*[J]. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(9): 853–862

[12] Yuan G F, Jia C G, Li Z, et al. Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 126(2): 103–108

[13] 康云艳, 杨暹, 郭世荣, 等. 24-表油菜素内酯对低氧胁迫下黄瓜幼苗碳水化合物代谢的影响[J]. 中国农业科学, 2011, 44(12): 2495–2503
Kang Y Y, Yang X, Guo S R, et al. Effects of 24-epibrassinolide on carbohydrate metabolism and enhancement of tolerance to root-zone hypoxia in cucumber (*Cucumis sativus* L.)[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2011, 44(12): 2495–2503

[14] 何新林, 陈书飞, 王振华, 等. 咸水灌溉对沙土土壤盐分和胡杨生理生长的影响[J]. 生态学报, 2012, 32(11): 3449–3459
He X L, Chen S F, Wang Z H, et al. Effect of saline water irrigation on sand soil salt and the physiology and growth of *Populus euphratica* Oliv[J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(11): 3449–3459

[15] Yu J Q, Huang L F, Hu W H, et al. A role for brassinosteroids in the regulation of photosynthesis in *Cucumis sativus*[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(399): 1135–1143

[16] 陆晓民, 郭世荣. 油菜素内酯对低氧胁迫黄瓜幼苗根系多胺、ATPase 活性及无机离子含量的影响[J]. 生态学杂志, 2013, 32(3): 611–614
Lu X M, Guo S R. Effects of brassinolide on the polyamines, ATPase activity, and inorganic ion content in roots of cucumber seedlings under hypoxia stress[J]. Chinese Journal of Ecology, 2013, 32(3): 611–614

[17] 李玉华, 雷志华, 赵奇, 等. 低温胁迫下 24-表油菜素内酯对高山离子芥幼苗叶片荧光特性和抗氧化系统的影响[J]. 郑州师范教育, 2013, 2(2): 36–42
Li Y H, Lei Z H, Zhao Q, et al. Effect of 24-epibrassinolide on chlorophyll fluorescence and antioxidant defense system of *Chorispora bungeana* under chilling stress[J]. Journal of Zhengzhou Normal Education, 2013, 2(2): 36–42

[18] 马梅, 刘冉, 郑春芳, 等. 油菜素内酯对盐渍下油菜幼苗生长的调控效应及其生理机制[J]. 生态学报, 2015, 35(6): 1837–1844
Ma M, Liu R, Zheng C F, et al. Regulation of exogenous brassinosteroid on growth of salt-stressed canola seedlings and its physiological mechanism[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(6): 1837–1844

[19] 寇江涛, 师尚礼. 2,4-表油菜素内酯对盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 草原与草坪, 2015, 35(1): 1–8
Kou J T, Shi S L. Effect of 2,4-epibrassinolide on seed germination and seedling growth of *Medicago sativa* under salt stress[J]. Grassland and Turf, 2015, 35(1): 1–8

[20] 毛美飞, 赵冰波, 岳薇. 稀盐酸提取植物中金属元素的效果研究[J]. 浙江农业科学, 1985(1): 29–35
Mao M F, Zhao B B, Yue W. Study on effect of diluted hydrochloric acid extracting metal elements in plant[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 1985(1): 29–35

[21] 张科, 张道远, 王雷, 等. 自然生境下盐角草的离子吸收–运输特征[J]. 干旱区研究, 2007, 24(4): 480–486
Zhang K, Zhang D Y, Wang L, et al. Study on the ionic absorption and transport in *Salicornia europaea* L. growing in natural habitats in Xinjiang[J]. Arid Zone Research, 2007, 24(4): 480–486

[22] 王锁民. 不同程度盐胁迫对碱茅离子吸收与分配的影响[J]. 草地学报, 1996, 4(3): 186–193
Wang S M. Effects of salt stress on the characteristics of ion absorption and distribution in *Puccinellia tenuiflora*[J]. Acta Agrestia Sinica, 1996, 4(3): 186–193

[23] 赵可夫, 李法曾, 张福锁. 中国盐生植物[M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 2013
Zhao K F, Li F Z, Zhang F S. Halophyte Flora in China[M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2013

[24] 尹博, 梁国鹏, 贾文, 等. 外源油菜素内酯介导 Cu 胁迫下番茄生长及 Cu、Fe、Zn 的吸收与分配[J]. 中国生态农业学报, 2014, 22(5): 578–584

Yin B, Liang G P, Jia W, et al. Exogenous EBR mediated the plant growth and absorption and accumulation of Cu, Fe and Zn in tomato seedlings under Cu stress[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2014, 22(5): 578–584

[25] Pätsikkä E, Kairavuo M, Šeršen F, et al. Excess copper predisposes photosystem Ⅱ to photoinhibition in vivo by outcompeting iron and causing decrease in leaf chlorophyll[J]. Plant Physiology, 2002, 129(3): 1359–1367

[26] Tester M, Davenport R. Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants[J]. Annals of Botany, 2003, 91(5): 503–527

[27] Cheeseman J M. Mechanisms of salinity tolerance in plants[J]. Plant Physiology, 1988, 87(3): 547–550

[28] 寇江涛, 师尚礼. 2,4-表油菜素内酯对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗根系生长抑制及氧化损伤的缓解效应[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(8): 1010–1019
Kou J T, Shi S L. 2,4-Epibrassinolide protection against root growth inhibition and oxidative damage of *Medicago sativa* L. seedling under NaCl stress[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2015, 23(8): 1010–1019

[29] Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1989, 990(1): 87–92

[30] Misra A N, Srivastava A, Strasser R J. Utilization of fast chlorophyll a fluorescence technique in assessing the salt/ion sensitivity of mung bean and Brassica seedlings[J]. Journal of Plant Physiology, 2001, 158(9): 1173–1181

[31] van Kooten O, Snel J F H. The use of chlorophyll nomenclature in plant stress physiology[J]. Photosynthesis Research, 1990, 25(3): 147–150

[32] Demmig-Adams B, Adams W W. Xanthophyll cycle and light stress in nature: Uniform response to excess direct sunlight among higher plant species[J]. Planta, 1996, 198(3): 460–470

[33] 王可玢, 许春辉, 赵福洪, 等. 水分胁迫对小麦旗叶某些体内叶绿素 a 荧光参数的影响[J]. 生物物理学报, 1997, 13(2): 273–278
Wang K B, Xu C H, Zhao F H, et al. The Effects of water stress on some in vivo chlorophyll a fluorescence parameters of wheat flag leaves[J]. Acta Biophysica Sinica, 1997, 13(2): 273–278

[34] Lichtenthaler H K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes[J]. Methods in Enzymology, 1987, 148: 350–382

[35] 许大全, 张玉忠, 张荣铣. 植物光合作用的光抑制[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(4): 237–243
Xu D Q, Zhang Y Z, Zhang R X. Photoinhibition of photosynthesis in plants[J]. Plant Physiology Communications, 1992, 28(4): 237–243

[36] Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology Ⅱ. Interpretation of fluorescence signals[J]. Photosynthesis Research, 1984, 5(2): 139–157

[37] Bilger W, Bjorkman O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*[J]. Photosynthesis Research, 1990, 25(3): 173–185

[38] Wise R R, Naylor A W. Chilling-enhanced photoxidation: Evidence for the role of singlet oxygen and superoxide in the breakdown of pigments and endogenous antioxidants[J]. Plant Physiol0gy, 1987, 83(2): 278–282

[39] 吴雪霞, 查丁石. NaCl 胁迫对茄子幼苗叶片叶绿素荧光参数和能量分配的影响[J]. 华北农学报, 2009, 24(6): 83–87
Wu X X, Zha D S. Effects of NaCl stress on chlorophyll fluorescence parameters and excitation energy dissipation in leaves of eggplant seedlings[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2009, 24(6): 83–87

[40] 胡文海, 胡雪华, 邹桂花, 等. 高温干旱对 2 个辣椒品种 PSⅡ功能与光能分配的影响[J]. 江西农业大学学报, 2010, 32(4): 695–699
Hu W H, Hu X H, Zou G H, et al. Effects of heat and drought stresses on the PSⅡ functions and absorbed light allocation in two pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2010, 32(4): 695–699